云 南 植 物 研 究 1996; **18** (4): 459～464
Acta Botanica Yunnanica

露水草中 20-羟基蜕皮甾酮的动态变化

王锦亮 阮德春 程治英 杨崇仁
(中国科学院昆明植物研究所，昆明 650204)

摘要 采用 HPLC 技术对云南产鸭跖草科分属于 3 个族 10 个属的 13 种植物中的 20-羟基蜕皮甾酮进行分析，结果表明 20-羟基蜕皮甾酮广泛存在于已分析的该科植物中，但含量除露水草外均甚微，不具有化学分类学的意义。20-羟基蜕皮甾酮在不同产地和不同生长季节的露水草中的含量变化，则与蝶类昆虫的活动显示有一定的相关性，从而提示 20-羟基蜕皮甾酮有可能是露水草与蝶类昆虫协同进化过程中的具有化学生态学意义的代谢产物。
关键词 露水草，20-羟基蜕皮甾酮

THE DYNAMIC VARIATION OF 20-HYDROXYECDYSONE IN CYANOTIS ARACHNOIDEA

WANG Jin-Liang, RUAN De-Chun, CHENG Zhi-Ying, YANG Chong-Ren
(*Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650204)

Abstract A quantitative analysis of 20-hydroxyecdysone was carried out by HPLC for *Cyanotis arachnoidea* and 13 other species of Commeliaceae, which were distributed in Yunnan and belonged to three tribes and ten gerena. The results showed that most species contained 20-hydroxyecdysone in trace, so it did not have any chemotaxonomic importance to Family Commeliaceae. The dynamic variation of 20-hydroxyecdysone in different collecting places and seasons of *C. arachnoidea* was also analysed. It is noticed that the content variation of 20-hydroxycdysone in both overground and underground parts of the annual planting of *C. arachnoidea* are interrelated with that of the visit by butterflies.
Key words *Cyanotis arachnoidea*, 20-hydroxyecdysone

20-羟基蜕皮甾酮（20-hydroxy ecdysterone）又称 β-蜕皮激素（β-ecdysone）是一种昆虫的变态激素，蜕皮甾酮类甾体化合物广泛地存在于不同科属的植物中。迄今，对其化学、分布、生物合成，以及在昆虫体内的代谢和生理功能等，均有大量的研究报道(邱明华等，1989；Sehnal，1989)。但是对蜕皮甾酮在植物中存在的化学生态学意义则极少涉及。云南产鸭跖草科草本植物露水草（*Cyanotis arachnoidea* C. B. Clarke）是我所聂瑞麟先生最早发现的富含 20-羟基蜕皮甾酮的资源植物(聂瑞麟等，1983, 1978；陈宗莲，1983)，已作为大量生产 20-羟基蜕皮甾酮的原料进行工业生产多年。在此基础上从植物化学的角度，探讨鸭跖草科植物中 20-羟基蜕皮甾酮的分布规律及其在露水草的不同产地和不同生长季节的含量变化，以及与昆虫活动的相关性，将有助于揭示 20-羟基蜕皮甾酮在植物中存在的化学生态学意义。本文就此作一初步的尝试。

1995-10-14 收稿，1996-07-18 修回

材料和方法

植物材料

露水草（*Cyanotis arachnoidea* C. B. Clarke）种子为陈宗莲研究员提供, 1991 年 4 月 28 日播种于本所植物生理研究室实验区。出苗后移地栽培，按不同生育期取样，样品洗净，于 105℃干燥后粉碎，过筛，称量备用。

其它鸭趾草科植物及其采集地分别为：穿鞘花（*Amischtolype hispida*(Less. et A. Rich.) Hong）（勐仑），假紫万年青（*Belosynapsis ciliata* (Bl.) Rolla Rao）（勐仑），银丝鸭趾草（*Callisia elegans* Alexand）（热带植物园引种栽培），饭包草（*Commelina benghalensis* L.）（勐仑），地地藕（*C. maculata* Edgew.）（昆明），大苞地地藕（*C. paludosa* Bl.）（勐仑），四孔草（*Cyanotis cristata* (L.)D. Don）（勐仑），兰耳草（*C. vaga* (Lour.) J. A. et Schult.）（昆明），聚花草（*Floscopa scandens* Lour.）（勐仑），竹叶参（*Murdannia japonica* (Thunb.) Foden）（勐仑），川杜若（*Pollia omeiensis* Hong）（勐仑），紫鸭趾草（*Setoreasea purpurea* Boem）（热带植物园引种栽培），竹叶吉祥草（*Spatholirion longifolium* (Gagnep.) Dunn）（昆明）。各植物样品按同样方法处理备用。

提取

称取 1～2 g 植物样品，在索氏抽提器中用甲醇回流提取 8～10 h，减压回收溶剂，提取物恒重后用 40%甲醇溶解，过滤，减压蒸干至恒重，将该提取物用大孔吸附树脂柱层析纯化，收集 60%甲醇洗脱部分，减压蒸干至恒重后定溶，待 HPLC 测定。

高压液相色谱分析

（1）仪器和分离条件(王强等，1990; Scalia 等, 1988; Henry 等, 1977)　Shimadzu LC-4A 高效液相色谱仪；C-R 3A 数据处理机；SPD-2A 可变波长紫外检测器；SIL-1A 手动进样阀，YMC PACK A-312 ODS 层析柱（4×150 mm）；流动相：甲醇：水（5.5∶4.5)；流速 0.5mL／min，柱压 30～33 kg／cm^2；紫外检测波长 254 mm（0.08 Aufs)；内标法。

（2）标准曲线制作　精密称取联苯 20.9 mg，定溶于 5 mL 甲醇中，配成 4.018 mg／mL 溶液作内标物质；精密称取 20-羟基蜕皮甾酮标准品 1.05 mg，以 1 mL 甲醇定溶，分别吸取 50，100，150，200，250 μL，各置于 1 mL 容量瓶内，加入 10 μL 内标物。甲醇定溶至刻度待用。吸取各种浓度标样 10 μL 进样进行 HPLC 测定，以峰面积比为纵座标，相应浓度为横座标，进行线性回归测定。结果表明，在 0.5～2.0 mg 范围内成良好线性关系（y＝1.21+0.884 x,r＝0.9998)。

结果与讨论

20-羟基蜕皮甾酮及其类似化合物在植物界的分布较广泛，已知蕨类植物，裸子植物和被子植物的许多科属中均有存在。也存在于不少单子叶植物中，鸭趾草科的露水草就是一个典型的例子。对云南产鸭跖草科分属于 3 个族 10 个属的 13 种植物的分析结果表明（表 1)，尽管 20-羟基蜕皮甾酮存在于大多数已分析的该科植物中，但通常含量甚微，20-羟基蜕皮甾酮的存在与鸭跖草科的系统演化和分类似无明显的关系，因而不具有化学分类学的意义。

表 1 云南鸭趾草科植物中的 20-羟基蜕皮甾酮

Table 1 20-Hydroxyecdysone in the commeliaceous plants of Yunnan

	植物名称	产地	部位	含量(%)
Pollieae				
川杜若	Pollia omeiensis Hong	勐仑	全株	0
Commelineae				
饭包草	Commelina benghalensis L.	勐仑	全株	0.009
地地藕	C. maculata Edgew	昆明	全株	0
大苞地地藕	C. paludosa Bl.	勐仑	全株	0.082
竹叶参	Murdannia japonica (Thunb.) Foden	勐仑	全株	0.036
Tradescantieae				
穿鞘花	Amischtolype hispida (Less. et A. Rich.) Hong	勐仑	地上部	0.005
假紫万年青	Belosynapsis ciliata (Bl.) Rolla Rao	勐仑	全株	0
银丝鸭趾草	Callisia elegans Alexand	引种	全株	0.013
四孔草	Cyanotis cristata (L.)D. Don	勐仑	全株	0.013
兰耳草	C. vaga(Lour.)J. A. et Schult.	昆明	全株	0.002
聚花草	Floscopa scandens Lour	勐仑	全株	0.160
紫鸭趾草	Setoreasea purpurea Boem	引种	全株	0.014
竹叶吉祥草	Spatholirion longifolium(Gagnep.)Dunn	昆明	地上部	0

表 2 昆明附近采集到的蝶类昆虫名录(1994.8～10)

Table 2 The butterfly list collected in Kunming during August to October, 1994

	蝶类名称	采集号
凤蝶科 Papilionidae		
宽带青凤蝶短带亚种	Graphium cloanthus clymenus (Leech)	P190／5
青凤蝶	G. sarpdon L.	P190／8
碧凤蝶	Papilio bianor Cramer	P190／11
玉斑凤蝶	P. helenus L.	P190／15
重帏翠凤蝶	P. hoppo Matsumura	134／8
玉带凤蝶	P. polytes L.	P191／2, P190／14
蓝凤蝶	P. protenor Cramer	P191／3
柑橘凤蝶	P. xuthus L.	P191／6
粉蝶科 Pieridae		
檗黄粉蝶	Eurema blanda Boisduval	160／11
玕黄粉蝶	Gandaca hairina Horsfield	160／22
圆刺钩粉蝶	Gonepteryx amintha Blanchnard	199／25
鹤顶粉蝶	Hebomoia glaucippe L.	160／23
橙粉蝶	Ixias pyrene L.	160／27
斑蝶科 Danaidae		
金斑蝶	Danaus chrysippus L.	198／7
虎斑蝶	D. genutia Cramer	153／5
大绢斑蝶	Parantica sita Kollar	
异型紫斑蝶	Euploea mulciber Cramer	155／11,155／12
蛱蝶科 Nymphalidae		
银豹蛱蝶	Ghildrena childreni Gray	P1947／7,P194／6

续上表

蝶类名称		采集号
曲纹银豹蛱蝶	C. zenobia Leech	P194／8
黄裳眼蛱蝶	Junonia hierta Fabricius	150／16
翠蓝眼蛱蝶	J. orithya L.	150／6
鹞蟠蛱蝶	pantoporia paraka Butler	P197／1
白钩蛱蝶	Polygonia c-album L.	P197／6
黄钩蛱蝶	P. c-aureum L.	P197／3
窄斑凤尾蛱蝶	Polyura athamas Drury	150／1
二尾蛱蝶	P. narcaea Hewitson	P197／10
小红蛱蝶	Vanessa cardui L.	152／11

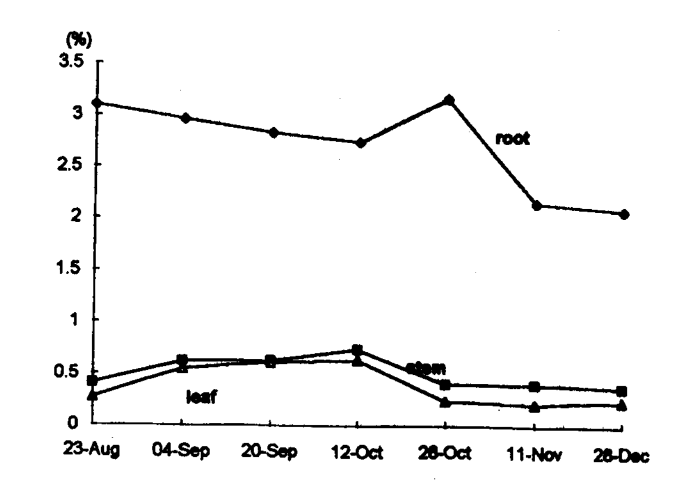


图 1 不同生长季节露水草中 20-羟基蜕皮甾酮的含量

Fig. 1 20-Hydroxyecdysome content of *C. arachnoidea* at different growth seasons

露水草为多年生宿根草本植物，全株近匍匐，具丛生的基生叶，从叶丛中发出数枝披散的长茎。聚伞花序复生而成头状，通常生于茎的顶端，花瓣兰色，花丝亦密被兰色锦毛，显示出典型的虫媒花特征。该植物分布于从云南向东经贵州，广西，广东，福建至台湾，北抵金沙江流域，西以高黎贡山为界，向南由中南半岛至斯里兰卡的热带，亚热带区域内，云南高原是其地理分布的中心，在其分布区的不同生态环境下也分布有同属的数种近缘植物，如兰耳草（*C. vaga*），四孔草（*C. cristata*）等，以及若干同科植物(吴征镒，1984)。

在云南中部和中南部，露水草多生长于海拔 1500～2500 m 的山地草坡，荒地和开阔旷野，常成片地生长于山区的丢荒地，有时成为草坡上的优势群丛，由于云南高原干湿季节分明的气候特征，露水草的年生育期较短，通常在雨季前的 5 月中旬始叶，9 月上旬进入开花期，11 月初霜季来临时地上部分开始枯萎。露水草的这一生物学特性，是与云南高原的自然环境相适应的(云南省计划委员会，1990; 陈宗莲；1983)。

露水草的当年生籽苗于 4 月 28 日播种，5 月 10 日出苗，5 月 25 日进入三叶期，7 月 4 日为五叶期，9 月 4 日开花，10 月 28 日为末花期，12 月 8 日倒苗，高压液相色谱定量分析结果表明，在整个年生育期

中，植株各部分的20-羟基蜕皮甾酮含量均以根部为高，通常在2.08%～3.10%之间，地上部分的含量则均在1.0%以下，然而在8月23日至10月12日的整个开花期中，根部20-羟基蜕皮甾酮的含量呈递减的趋势；10月28日末花期又反弹至最高峰，与此相反，地上部分的20-羟基蜕皮甾酮含量在开花期逐渐升高，花后则显著降低（图1），这一化学现象似乎与露水草昆虫传粉的特性有内在的相关性，露水草具兰色而鲜艳的花，花的结构适于昆虫传粉。野外观察中注意到飞舞在山坡旷野中的蝶类昆虫是露水草的主要访问者，也是其主要的传粉者，为露水草的花提供了授粉的机会，而露水草的地上部分特别是叶片，也为蝶类的幼虫提供了食物，我们在露水草的开花期于昆明黑龙潭附近山坡旷野中采集到常见的蝶类分属于凤蝶科，粉蝶科，斑蝶科和蛱蝶科等四个科的16属27种（表2），其中的一些种类就是露水草的访问者。同时，对云南中部和中南部7个不同地点采集的露水草分析结果也表明，在类似的自然条件下，露水草的生长环境中均有蝶类昆虫的存在，其20-羟基蜕皮甾酮的含量并无显著的变化（图2），已知20-羟基蜕皮甾酮是蝶类昆虫生活周期与新陈代谢所必需的变态激素，对其生活行为和生理调节有着重要的影响(Rees，1995)；而对植物的生长发育则无植物内源激素样的调节功能(Machackova 等，1995)。露水草在开花期地上部分的20-羟基蜕皮甾酮含量升高，并在物候上与蝶类的生活期相互配合，显然不应解释为偶然的趋同现象。而是云南中部高原上露水草与蝶类昆虫在生物学行为和生态方面表现的一种相互适应，相互利用和共同进化的结果，是两类生物在长期协同进化过程中自然选择的结果。而露水草中20-羟基蜕皮甾酮的合成与代谢正是这一生态相关与协同进化的化学基础。

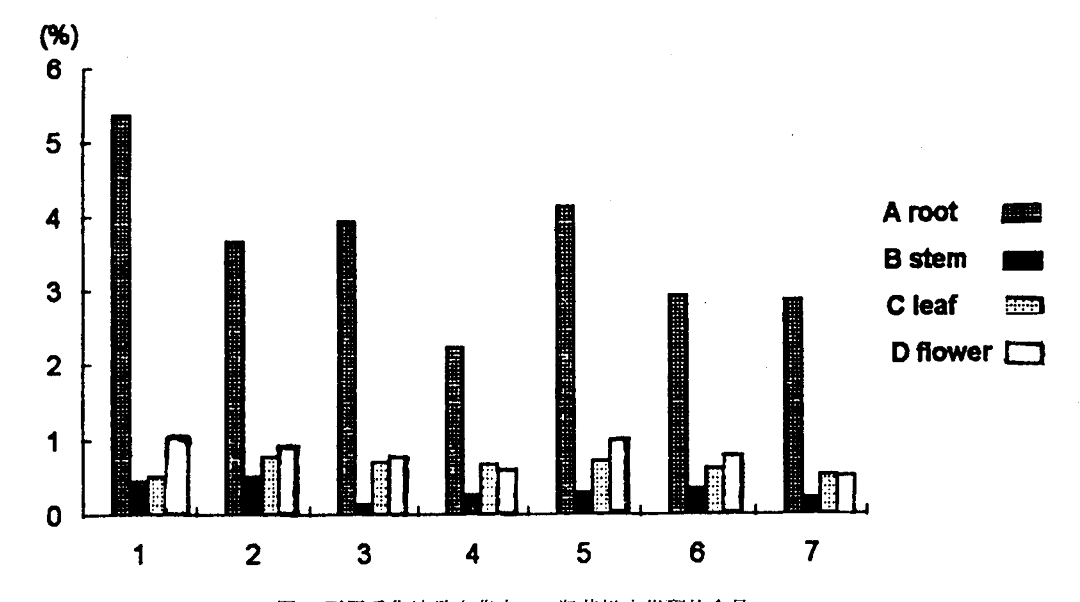


图2 不同采集地露水草中20-羟基蜕皮甾酮的含量

Fig. 2 20-Hydroxyecdysone content of *C. arachnoidea* in different collecting areas

1. Shiping 石屏; 2. Ershan 峨山; 3. Jiangchuan; 江川; 4. Chenjiang 澄江; 5. Jinning 晋宁; 6. Mile 弥勒; 7. Luoping 罗平

与露水草相比较，所分析的其他鸭趾草科植物有的是热带和亚热带林内植物，如：穿鞘花（*Amischtolype hispida*），聚花草（*Floscopa scandens*），竹叶参（*Murdannia japonica*），川杜若（*Pollia omeiensis*）等，缺乏蝶类昆虫授粉的自然环境。同属植物兰耳草（*C. vaga*）与露水草有类似的分布区，但多生长于水沟边的潮湿生态环境中，与露水草的生物学习性有明显的差异。这些植物中20-羟基蜕皮甾酮的含量甚微，进一步说明了20-羟基蜕皮甾酮在露水草中的存在所具有的化学生态学意义。

本项工作仅初步揭示了云南高原上植物与昆虫间的一个化学生态学现象，至于20-羟基蜕皮甾酮在露水草中的形成积累的规律，及其与蝶类昆虫的相互关系将有待于进一步阐明。

从开发利用的角度而言，虽然露水草在云南中部及中南部有丰富的野生资源，大规模的采收不仅仍会造成资源的枯竭，而且将引起山区的水土流失，使生态环境遭到严重的破坏。露水草为多年生宿根草本植物，栽培比较容易，当年即可采收(陈宗莲，1983)。为了有效而合理地开发利用这一可贵的植物资源，应选择适当地区建立基地，进行集约化栽培生产。这对于维护自然生态和资源的保护均有重要的意义。对于发展山区经济也是有益的。从生物产量而言，栽培二年采收较为合理。无论是栽培的还是野生采集的，采收季节均以在每年开花后的10月下旬为宜(聂瑞麟等，1983)。

致谢 承陈宗莲研究员提供露水草种子，李恒研究员鉴定植物学名，昆明动物研究所鉴定蝶类标本。

参 考 文 献

王 强，俞详生，1990. 19种资源植物中β-蜕皮激素含量的测定. 中国药科大学学报，**21**（3）：229～231

云南省计划委员会编著，1990. 云南国土资源. 昆明: 云南科技出版社，34～77

邱明华，聂瑞麟，1989. 植物蜕皮激素的开发与应用. 自然资源（3）：42～49

陈宗莲，1983. 露水草家化栽培研究简报. 云南植物研究. **5**（3）：319～322

吴征镒主编，1984. 《云南种子植物名录》下册. 昆明: 云南人民出版社，1892～1898

聂瑞麟, 许祥誉, 何 敏等，1978. 露水草植物中蜕皮激素的分离与鉴定. 化学学报，36（2）：137～140

聂瑞麟, 岳远征，1983. 栽培露水草β-蜕皮激素含量的测定. 云南植物研究, **5**（3）：317～318

Henry R A, Sxhmit J A, Dieckman J F, 1977. The Analysis of Steroid and derivatized steroids by high speed liquid chromatography. *J Chromatogr Sci*, **9**: 513

Machackova I, Vagner M, Slama K, 1995. Comparision between the effects of 20-hydroxyecdysone and phytohormones on growth and development in plants. *Eur J Entomol*, **92**(1):309～316

Rees H H, 1995. Ecdysteroid biosynthesis and inavtivation in relation to function. *Eur J Entomol*, **92**(1): 9～39

Scalis S Morgan, E D. 1985. Simultaneous determination of free and conjugated ecdystroids by liquid chromatography. *J Chromatogr*, **346**: 301～308

Sehnal F, 1989. Hormmona; role of ecdysteroids in insect larvae and during metamophosis. In: Koolman J. (Ed.): Ecdysome-From Chemistry to Mode of Action. Thieme, Stuttgart, 271～278